

· 综 述 ·

中性粒细胞胞外陷阱与相关眼部疾病研究进展

刘惠蕊 综述 刘平 葛红岩 审校

哈尔滨医科大学附属第一医院眼科医院, 哈尔滨 150001

通信作者: 葛红岩, Email: gehongyan@hrbmu.edu.cn

【摘要】 中性粒细胞是先天免疫的重要效应细胞,在免疫防御中发挥核心作用。病原体入侵时,中性粒细胞可以通过合成活性氧进行吞噬和降解,以脱颗粒或释放抗菌肽的方式来杀灭微生物。近年来研究发现一种新的中性粒细胞防御机制即通过形成中性粒细胞胞外陷阱(NETs)来捕获微生物。NETs是由中性粒细胞核内染色质解聚和扩散后释放到细胞外的DNA网状结构。不同刺激物可激活不同的NETs形成模式,其本质在于中性粒细胞内容物的释放是否会影响其本身的吞噬功能。最初认为NETs是一种具有杀菌作用的介质,其在角膜炎中可以对细菌、真菌等起到包裹并清除的作用,防止细菌上行入脑,但NETs又会导致角膜产生不可逆性损伤。同时,研究发现NETs也具有促炎作用,并在多种炎症性眼病的发生和发展中起作用,包括干眼、糖尿病视网膜病变、青光眼、年龄相关性黄斑变性等。目前,越来越多的研究开始关注NETs在自身免疫性眼病中的作用,即NETs可以产生有利于自身免疫性眼病的新抗原,但也会增加组织损伤。本文对NETs的相关研究进行总结,重点描述眼部疾病中NETs的形成及其作用,以期为目标治疗眼部疾病提供新思路。

【关键词】 中性粒细胞; 中性粒细胞胞外陷阱; NETosis; 免疫反应; 眼科疾病**基金项目:** 哈尔滨医科大学附属第一医院横向课题(2020HX033)

DOI:10.3760/cma.j.cn115989-20220511-00208

Research progress of neutrophil extracellular traps and related eye diseases

Liu Huirui, Liu Ping, Ge Hongyan

Eye Hospital, First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, China

Corresponding author: Ge Hongyan, Email: gehongyan@hrbmu.edu.cn

【Abstract】 Neutrophils are important effector cells of innate immunity and play a key role in immune defense. When pathogens invade, neutrophils can kill microorganisms by phagocytosis and degradation through synthesis of reactive oxygen species, degranulation or release of antimicrobial peptides. In recent years, studies have discovered a new neutrophil defense mechanism that captures microorganisms by forming neutrophil extracellular traps (NETs). NETs are DNA networks that are released outside the cell after depolymerization and diffusion of chromatin in the nucleus of neutrophils. Different stimuli can activate different patterns of NETs formation, the essence of which is whether the release of neutrophil contents affects its own phagocytic function. NETs were initially thought to be a kind of mediator with bactericidal effect, which can wrap and remove bacteria and fungi in keratitis, preventing bacteria from ascending into the brain, but it will lead to irreversible damage to the cornea. At the same time, studies have found that NETs also have pro-inflammatory effects and play a role in the development of a variety of inflammatory eye diseases, including dry eye, diabetic retinopathy, glaucoma, and age-related macular degeneration, etc. Currently, more and more studies are focusing on the role of NETs in autoimmune eye diseases, that is, NETs can generate new antigens that are beneficial to autoimmune eye diseases, but also increase tissue damage. This review summarizes the related studies on NETs, focuses on describing the formation and role of NETs in ocular diseases, and provides new ideas for targeted treatment of ocular diseases.

【Key words】 Neutrophil; Neutrophil extracellular traps; NETosis; Immune response; Ocular diseases**Fund program:** Outsourced Project of First Affiliated Hospital of Harbin Medical University (2020HX033)

DOI:10.3760/cma.j.cn115989-20220511-00208



中性粒细胞是血液中最丰富的白细胞,可以保护机体免受细菌、真菌和病毒等病原体的侵害^[1]。中性粒细胞也是一线免疫防御的一部分,并在先天免疫反应中发挥核心作用。当机体遭受感染或炎症时,中性粒细胞作为第 1 个从血液迁移到受伤或感染部位的白细胞,可以吞噬入侵的微生物,通过不同的细胞毒性机制来消除入侵的病原体。其主要通过 3 种机制来攻击入侵的微生物:(1)通过在吞噬酶体中合成活性氧(reactive oxygen species, ROS)进行吞噬和降解;(2)脱颗粒或释放抗菌肽;(3)通过释放中性粒细胞胞外陷阱(neutrophil extracellular traps, NETs)来进行微生物的捕获^[2]。其中,NETs 是中性粒细胞释放,且由颗粒衍生的抗菌肽和活性酶所修饰的染色质网络。NETosis 描述了中性粒细胞产生和释放 NETs 的过程,此过程是先天性免疫反应的一个重要过程,也在中性粒细胞与 T 细胞、B 细胞和抗原呈递细胞的适应性免疫反应中发挥作用^[3]。据报道,多种免疫细胞均会产生胞外陷阱,但 NETs 最早产生并发挥重要作用^[4]。本文就 NETs 与眼科相关疾病研究进展进行综述。

1 中性粒细胞与衰老

中性粒细胞是除了物理屏障之外免疫防御的第一道防线,主要分布在血液和组织中,其在血液中的寿命为 6~8 h,而在组织中的寿命最长可达 7 d^[5]。并且中性粒细胞是衰老过程中发生功能改变的免疫细胞之一^[6]。衰老的中性粒细胞的特征在于表面分子表达的改变,例如淋巴细胞功能相关抗原 1、巨噬细胞 1 抗原、Toll 样受体 4(Toll-like receptors-4, TLR-4)、血小板内皮细胞黏附分子 1 和更高的氧化应激水平等的改变。衰老过程涉及包括眼在内的每个器官特定功能的逐渐衰退,与身体其他部位一样,与年龄相关的眼部变化是由氧化和炎症细胞损伤引起的^[7]。他们的共同机制之一可能是对 NETs 形成/降解的破坏。同时,年龄相关性疾病的患者在局部和全身水平上都存在中性粒细胞的聚集和 NETs 成分的过度表达。此外,在炎症作用下,老化的中性粒细胞更容易形成 NETs^[8],NETs 的积聚损害器官功能,但可以使缺血性损伤后的血管再生和修复^[9]。值得注意的是,视网膜病变中的血管重塑常伴随无菌炎症和中性粒细胞募集的延迟,而病变血管内皮细胞则通过参与衰老与细胞损伤相关的共同分子途径,最终促进了细胞衰老的发生。而后,衰老的血管单位释放细胞因子,吸引中性粒细胞,并触发产生 NETs^[10]。

2 NETosis 的形成

中性粒细胞是免疫系统中第一批迁移到炎症部位的细胞,在消除病原体和产生细胞因子方面发挥着重要作用^[5]。其对宿主的主要防御机制包括吞噬、脱颗粒、生成细胞因子以及产生 NETs 等。其中,NETs 是染色质解聚和扩散而释放的 DNA 结构,占据浓缩染色质体积的 3~5 倍。该 DNA 网状结构上有多种蛋白质黏附,包括组蛋白和初级、次级颗粒等 30 多种成分,其中还含有杀菌活性的成分,如中性粒细胞弹性蛋白酶(neutrophil elastase, NE)、髓过氧化物酶(myeloperoxidase,

MPO)和其他能够破坏毒力因子的蛋白。1996 年,Takei 等^[11]在用佛波酯处理的中性粒细胞中观察到了明显的形态学变化,从而发现了 NETs 的形成,这是一种不同于凋亡和坏死的细胞死亡途径。Brinkmann 等^[12]在 2004 年进一步细化了这一过程,并将其命名为 NETosis。目前,NETs 产生的分子机制尚不完全清楚,已知的 3 种 NETosis 模式如下。

2.1 自杀式 NETosis

自杀式 NETosis 持续时间为 2~4 h,是现阶段研究较清楚的模式。在这种模型中,配体通过与中性粒细胞 TLR、IgG-Fc 片段、补体或细胞因子受体结合而激活中性粒细胞^[13]。激活后,中性粒细胞内质网将其储存的 Ca^{2+} 释放到细胞质中,使得胞质 Ca^{2+} 增加,进而激活 NADPH 氧化酶(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase, NOX)复合物并产生 ROS。同时, Raf-MEK-ERK 信号转导通路也参与了此过程。ROS 促进 NE 和 MPO 从嗜天青颗粒易位到细胞核中并诱导染色质解聚。MPO 可将过氧化氢转化为次氯酸从而激活 NE,进而促使染色质通过膜孔和细胞溶解释放到细胞外。而细胞质中 Ca^{2+} 水平增加,又会激活肽基精氨酸酶脱氨酶 4(peptidylarginine deiminase 4, PAD4),并使该酶移动到细胞核中。其中, PAD4 的作用为参与组蛋白瓜氨酸化过程,即促进组蛋白与 DNA 相互作用,进而使得染色质去浓缩^[14]。

从以上过程可以看出,自杀式 NETosis 不同于程序性细胞死亡或细胞凋亡,其依赖于 ROS 通过 PAD4 进行组蛋白瓜氨酸化,使得染色质解聚,最终释放 DNA 作为胞外陷阱并捕获外源性细菌^[14-15]。此外,有研究者提出,包括乙酰化在内的组蛋白翻译后修饰似乎在调节中性粒细胞死亡中发挥核心作用^[16]。而 NETs 中的组蛋白修饰可以起到双刃剑的作用,因为他们能够改变多种类型的中性粒细胞死亡,并影响许多 NETs 介导的疾病。

2.2 非溶解性 NETosis

金黄色葡萄球菌和白念珠菌通过与 TLR 和 C3 蛋白的补体受体结合,在 5~60 min 内即可快速诱导出非溶解性 NETosis 模式。这种模式不表现出核膜和质膜的分解破坏,且独立于 ROS 和 Raf-MEK-ERK 通路^[17-18]。在此模式中 PAD4 可能不需要任何氧化剂的作用下被激活、入核并诱导染色质失去小叶状和多核形状^[15]。而后含有 DNA 的囊泡会接近完整的细胞膜,并以胞外陷阱的形式通过细胞表面的一小块区域释放,同时释放一些细胞质颗粒到细胞外空间与 DNA 结合^[19-20]。在非溶解性 NETosis 中,核内容物的释放不会影响中性粒细胞的寿命,即这些中性粒细胞保留了吞噬病原体的能力。

2.3 线粒体 NETs

NETs 形成的另一种模式是形成线粒体 NETs^[21],该过程可通过脂多糖在 15 min 内形成 NETs。在该模式中线粒体通过产生 ROS、刺激 TLR-4 或 C5a 受体导致线粒体降解,并将氧化的线粒体 DNA 释放到细胞外。同时, NADPH 氧化酶抑制剂可完全阻断中性粒细胞释放线粒体 DNA,说明这种类型的 NETosis 依赖于 NOX。

3 NETs 与相关眼部疾病

3.1 NETs 与干眼

目前认为干眼的发生和发展是一个多因素导致的多步骤过程,高渗透压是其中的一条重要途径^[22],高渗透压在某种程度上可能会加速中性粒细胞向眼表募集,同时眼表发生级联炎症事件,改变泪膜的稳定性,并且激活 NETosis。研究发现干眼患者泪液中含有大量中性粒细胞和 NETs 成分^[23-25]。这一结果也表明,中性粒细胞和 NETosis 在重度干眼发病中发挥了关键作用,因此,泪液中细胞外 DNA 和 NETosis 已被评估为干眼的潜在治疗靶点^[26]。同时,临床试验数据表明 DNase 滴眼液似乎是安全的,并且有益于治疗严重的泪液缺乏型干眼,这可能是由于 DNase 对眼表 NETs 的降解作用^[27-28]。此外,Sjögren 干眼患者的泪液呈现出 NETs 成分脂质运载蛋白 2 (lipocalin-2, LCN2) 的显著上调^[29]。眼移植植物抗宿主病泪液中 NE 也会显著增加且与基质金属蛋白酶 8 (matrix metalloproteinase, MMP-8)、MMP-9 和 MPO 的升高密切相关^[24]。这些发现提示不同类型干眼在分子机制上可能存在一定共性,即 NETs 的持续生成与炎症放大。

另外,睑板腺的慢性炎症或泪膜脂质层的缺损会导致泪液脂质流失,从而促进泪液蒸发,导致泪膜不稳定和高渗,最终也会导致干眼的发生。Mahajan 等^[28]采用免疫荧光法发现眼部有炎症的小鼠和人睑板腺导管和开口处充满了大量的细胞外 DNA,且显示出 MPO 和瓜氨酸化组蛋白 H3 染色,这表明有大量的 NETs 生成,而聚集的 NETs 又会引起睑板腺开口阻塞、导管扩张和腺泡萎缩。Reyes 等^[30]已经证明,在慢性炎症动物模型中,中性粒细胞会促进睑板腺阻塞,而且睑板腺功能障碍 (meibomian gland dysfunction, MGD) 患者的泪液也会呈现出与 MGD 严重程度相关的高中性粒细胞水平。此外,他们还发现通过药物抑制 PAD4 会抑制聚集的 NETs,可以有效减轻睑板腺的损伤。总之,NETs 在干眼的发生和发展中起着重要作用,同时,需要进一步的研究来验证 NETs 的治疗潜力。现有证据支持 NETs 在干眼的发生和进展中发挥重要作用,其作用贯穿了从泪膜不稳定到腺体功能障碍的多个环节。虽然 NETs 已被提出作为潜在治疗靶点,但不同类型干眼中 NETs 作用模式是否一致,以及靶向 NETs 的治疗策略能否转化为长期有效的临床方案,仍需要进一步深入研究。

3.2 NETs 与角膜疾病

3.2.1 NETs 与细菌性角膜炎 Thammavongsa 等^[31]发现,NETs 与源自金黄色葡萄球菌的核酸酶和腺苷合酶一起孵育可促进脱氧腺苷的形成,而脱氧腺苷能够诱导细胞死亡,也就是说 NETs 可能通过对巨噬细胞产生细胞毒性作用,从而使细菌死亡。铜绿假单胞菌角膜炎可以引起角膜上皮生物膜形成,并通过 3 型分泌系统触发 NETosis,产生的 NETs 可阻止细菌进入大脑,但同时也会导致抗生素的耐药性^[32]。Zhu 等^[33]研究表明,地塞米松可以直接减少由铜绿假单胞菌诱导的 NETs 形成,但是地塞米松也会引起严重的角膜感染和穿孔的现象。

中性粒细胞通过中性粒细胞脱颗粒、NETosis 和中性粒细

胞自噬参与眼表疾病的发病机制。其中,吞噬作用和脱颗粒作用主要与小微生物的摄入有关,而大型细菌和真菌则主要诱导 NETosis^[34]。作为对病原体暴露的反应,中性粒细胞最快的作用是吞噬,可以在几分钟内产生。此外,NETs 在细菌性角膜炎中可能发挥双重作用,即其对细菌的清除很重要,但是同时也会角膜产生不可逆性损伤。因此,NETs 在应对细菌(如金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌)时作用复杂,既有助于细菌清除,也可能引发细胞毒性、抗生素耐药性及角膜损伤等问题,且中性粒细胞的不同作用方式与眼表疾病发病及应对病原体相关,地塞米松调节 NETs 形成时也存在发生不良反应的风险。

3.2.2 NETs 与真菌性角膜炎 NETs 在真菌性角膜炎中也同样起到双相作用^[35-36]。Jin 等^[37]在对 14 例真菌性角膜炎患者进行的角膜刮片培养和免疫荧光染色研究中均发现了 NETs 的生成,而且 NETs 形成程度较高且真菌菌丝较少的患者总是表现出良好的治疗效果和较短的感染病程。此外,NETs 还参与了白念珠菌性角膜炎的免疫应答,其中,中性粒细胞能够通过释放 NETs 来捕获并清除白念珠菌的酵母或菌丝,而 C3 受体则通过识别菌丝上的 β -葡聚糖实现了快速的 NETosis,但此过程与 ROS 的产生无关^[37-39]。而在慢性肉芽肿性疾病中,侵袭性曲霉病是导致患者死亡率居高的一种真菌性感染疾病,与白念珠菌相似,曲霉菌也会产生侵袭素,使其能够黏附到宿主细胞上。但不同之处在于,烟曲霉体外诱导 NETs 的释放过程需要先激活 NOX^[40]。小鼠真菌性角膜炎中性粒细胞分泌的 MMP-8 可降解角膜基质层胶原纤维,导致角膜混浊或穿孔。人中性粒细胞中 MMP-8 蛋白的表达水平变化可能与 AMPK 活化有关^[41]。NETs 在真菌性角膜炎中既能通过限制真菌扩散发挥保护作用,又可能通过过度反应造成组织破坏。这提示未来的研究应聚焦于如何平衡 NETs 的抗真菌防御与对角膜组织的损伤,从而为临床治疗提供更为精准的干预思路。

3.2.3 NETs 与其他角膜疾病 病毒性角膜炎,如流感病毒或人类免疫缺陷病毒感染角膜,往往伴随中性粒细胞浸润,并通过分泌细胞因子或趋化因子导致角膜损伤^[18]。病毒的复制是快速且有效的,中性粒细胞通过 TLR 识别病毒的核酸,随后释放 ROS 以诱导 NETs 的形成。角膜碱烧伤会导致细胞外 pH 增加,从而促进 Ca^{2+} 内流、线粒体 ROS 生成、PAD4 酶入核和组蛋白瓜氨酸化,最终刺激 NETs 的生成^[42]。碱激活中性粒细胞分别通过吞噬作用和 NETs 的形成来干扰人角膜上皮细胞的增殖和迁移,而乙酰水杨酸可以通过抑制核因子- κB 来减少 NETs 的形成,从而促进角膜上皮细胞的迁移^[43]。

3.3 NETs 与糖尿病视网膜病变

糖尿病视网膜病变 (diabetic retinopathy, DR) 是糖尿病常见的微血管并发症,也是常见的致盲原因之一。在 DR 的发病机制中血-视网膜屏障的损伤尤为关键,这也是导致中性粒细胞迁移到视网膜上和促炎因子过表达的重要原因之一^[44]。高血糖不仅与促炎细胞因子和自身抗体水平升高有关,还会增加 ROS 的产生,从而导致氧化应激,这反过来又促进了中性粒细胞的募集和激活。细胞质内 Ca^{2+} 增加会激活 NOX 并充当 PAD4 的辅助因子诱导 ROS 生成,最终形成 NETosis,导致糖尿

病相关并发症的发生^[19,44]。Barliya 等^[45]首次从复杂性增生型 DR 患者的玻璃体腔样本中检测出高水平的 NETs 标志物。一项针对空腹血糖和糖化血红蛋白水平进行调整的多变量逻辑回归分析显示,NETs 形成的标志物是视网膜病变的重要独立危险因素,这些观察结果强调了 NETs 作为 DR 潜在治疗靶点的重要性^[46]。

值得注意的是,后续机制研究逐渐揭示了 NETs 在 DR 中的多重作用。一方面,高血糖诱导的 NETs 会直接损伤血管内皮,并通过 TLRs 等通路加剧内皮功能障碍^[47];另一方面,CCN1 可在糖尿病条件下招募中性粒细胞并触发 NETs 排出,进而加重视网膜炎症、血管闭塞和渗漏^[48]。同时,体外实验发现,抑制 LL37/FPR2/mPTP 轴或 PI3K/AKT 信号通路能够显著减少高糖诱导的 NETs 生成,提示 FPR2 在该过程中具有关键调控作用^[49]。

综上,现有证据不仅从临床和实验层面支持 NETs 在 DR 发病中的核心地位,也突显了其在炎症放大和血管损伤中的双重作用。然而,目前相关研究仍主要集中于 NETs 的发现与关联性验证,对于其在 DR 中发挥作用的确切分子机制、与其他炎症通路的交互,以及临床靶向干预的可行性仍缺乏深入探讨。因此,未来研究需要进一步阐明 NETs 在 DR 中的特异性作用机制,并探索基于 NETs 的精准干预策略,以期为该疾病的治疗提供新的突破口。

3.4 NETs 与青光眼

Feng 等^[50]提出 LCN2 参与青光眼的发病机制和其作为该疾病的生物标志物、治疗靶点的潜在作用。原发性开角型青光眼(primary open-angle glaucoma, POAG)患者房水中 NETs 成分 LCN2 呈现出高水平表达^[51],就像在青光眼大鼠模型中一样,这些患者的视网膜神经节细胞也可能过表达 LCN2^[52]。小胶质细胞、星形胶质细胞和神经节细胞等视网膜细胞均可以释放 LCN2,而 LCN2 也可以作用于这些细胞来调节神经炎症的过程^[53]。POAG 患者的小梁网会招募中性粒细胞和包括肿瘤坏死因子 α 、白细胞介素 1β (interleukin, IL- 1β) 和 IL-6 在内的促炎细胞因子过表达,从而促进 NETosis^[54]。

3.5 NETs 与年龄相关性黄斑变性

Ghosh 等^[55-57]已经证明年龄相关性黄斑变性(age-related macular degeneration, AMD)患者的视网膜过表达 LCN2 的现象存在,并且早期 AMD 患者的脉络膜和视网膜比年龄匹配的对照组有更高表达 LCN2 的中性粒细胞浸润,这些中性粒细胞还会表达 MPO 和 NE。在炎症应激下,中性粒细胞等免疫细胞释放 ATP,激活嘌呤能离子通道型 7 (purinergic ligand-gated ion channel 7, P2X7) 诱导细胞死亡。此外,ATP 可以激活中性粒细胞 P2X7 受体的调节功能来介导促炎介质的分泌和 NETs 的形成^[58]。Fletcher 等^[59]建议靶向 P2X7 受体来治疗 AMD,因为 P2X7 受体的阻断可以延缓晚期 AMD 中光感受器细胞的死亡。

除 P2X7 受体外,NK 细胞在 AMD 中的作用也逐渐受到关注。有研究发现,抑制 NK 细胞或其激活受体 NKG2D 会抑制 NETs 形成,但同时加剧血管渗漏和病理性血管生成,这提示 NK 细胞可能通过调控 NETosis 在 AMD 中发挥保护性作用^[60]。

另一方面, $\beta 1-40$ 作为黄斑囊样变性的主要成分,可直接诱导 NETs 形成,进一步证明了 NETs 在 AMD 发病机制中的潜在重要性^[61]。综合来看,AMD 的发生不仅仅是单一炎症因子或细胞类型作用的结果,而是多种免疫细胞(如中性粒细胞、NK 细胞)和信号通路(如 P2X7 受体、 $\beta 1-40$ 相关机制)共同作用的结果。现有证据提示 NETs 可能在 AMD 中兼具损伤与调控的双重作用:一方面促进炎症反应和组织损害,另一方面在特定条件下也可能参与病理过程的抑制。因此,未来研究需要进一步明确不同阶段 AMD 中 NETs 的具体作用模式,并探索以 NETs 为核心的免疫调控策略是否能够实现对 AMD 的精准干预。

3.6 NETs 与其他眼病

马复发型葡萄膜炎(equine recurrent uveitis, ERU)被描述为人类自身免疫性葡萄膜炎的模型。Fingerhut 等^[62-63]研究发现,ERU 眼部组织中 NETs 标志物较健康马水平明显升高,且患马玻璃体腔液在体外培养的中性粒细胞中 NETs 形成率更高。此外,琥珀酸可能通过激活 Th1/Th17 细胞并诱导 CD4⁺T 细胞产生干扰素- γ /IL-17A 和生成 NETs,使得自身免疫性葡萄膜炎恶化^[64-65]。Behcet 病是一种累及眼部、口腔、皮肤等多器官的全身免疫性疾病,在此类疾病病损的皮肤处可观察到 NETs 的释放^[66]。Behcet 病变与复杂遗传易感性相关,其可能会介导抗原特异性激活或分化 IL-17A⁺CD8⁺T 细胞。在此过程中,IL-17A 招募的中性粒细胞可能通过广泛的 NETs 形成来加剧组织损伤^[67]。尽管 NETs 在自身免疫性疾病中起到不利作用,但是对于衰老的内皮细胞和血管来说,NETs 的释放可触发其凋亡来清除病变血管。Binet 等^[10]采用正交实验法对增生性 DR 患者和缺血性视网膜病变的小鼠模型进行研究发现,衰老的脉管系统释放细胞因子,吸引中性粒细胞并触发 NETosis,NETs 最终清除病变的内皮细胞并重塑不健康的血管。

4 小结

NETs 具有两面性,当微生物入侵时会固定并清除有害物质;而在自身免疫性疾病中又会损伤宿主组织,促进自身免疫的发展,并导致转移、血栓形成和凝血等功能失调。同时,中性粒细胞,甚至 NETs 可能在无菌损伤中发挥一些有益的作用,痛风炎症反应的自发消退与中性粒细胞和聚集的 NETs 有关,后者通过丝氨酸蛋白酶降解细胞因子和趋化因子。此外,抑制 NETosis 可以减少炎症和炎症相关的器官损伤,可以作为多种眼科疾病或其他自身免疫性疾病的治疗选择。然而,目前对于 NETs 的发生和分子机制了解尚不全面,同时也需要更多的临床试验验证各种抑制剂的疗效。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Rosales C, Lowell CA, Schnoor M, et al. Neutrophils; their role in innate and adaptive immunity 2017 [J]. J Immunol Res, 2017, 2017: 9748345. DOI:10.1155/2017/9748345.
- [2] Papayannopoulos V. Neutrophil extracellular traps in immunity and disease [J]. Nat Rev Immunol, 2018, 18(2): 134-147. DOI:10.1038/nri.2017.105.
- [3] Mantovani A, Cassatella MA, Costantini C, et al. Neutrophils in the

- activation and regulation of innate and adaptive immunity[J]. *Nat Rev Immunol*, 2011, 11(8): 519–531. DOI: 10.1038/nri3024.
- [4] Ramos-Martínez E, Hernández-González L, Ramos-Martínez I, et al. Multiple origins of extracellular DNA traps[J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 621311. DOI: 10.3389/fimmu.2021.621311.
- [5] Nauseef WM, Borregaard N. Neutrophils at work[J]. *Nat Immunol*, 2014, 15(7): 602–611. DOI: 10.1038/ni.2921.
- [6] Drew W, Wilson DV, Sapey E. Inflammation and neutrophil immunosenescence in health and disease: targeted treatments to improve clinical outcomes in the elderly[J]. *Exp Gerontol*, 2018, 105: 70–77. DOI: 10.1016/j.exger.2017.12.020.
- [7] Crooke A, Huete-Toral F, Colligris B, et al. The role and therapeutic potential of melatonin in age-related ocular diseases[J/OL]. *J Pineal Res*, 2017, 63(2): e12430 [2025-01-10]. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jpi.12430>. DOI: 10.1111/jpi.12430.
- [8] Uhl B, Vadlau Y, Zuchtriegel G, et al. Aged neutrophils contribute to the first line of defense in the acute inflammatory response[J]. *Blood*, 2016, 128(19): 2327–2337. DOI: 10.1182/blood-2016-05-718999.
- [9] Kang L, Yu H, Yang X, et al. Neutrophil extracellular traps released by neutrophils impair revascularization and vascular remodeling after stroke[J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 2488. DOI: 10.1038/s41467-020-16191-y.
- [10] Binet F, Cagnone G, Crespo-Garcia S, et al. Neutrophil extracellular traps target senescent vasculature for tissue remodeling in retinopathy[J]. *Science*, 2020, 369(6506): eaay5356. DOI: 10.1126/science.aay5356.
- [11] Takei H, Araki A, Watanabe H, et al. Rapid killing of human neutrophils by the potent activator phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) accompanied by changes different from typical apoptosis or necrosis[J]. *J Leukoc Biol*, 1996, 59(2): 229–240. DOI: 10.1002/jlb.59.2.229.
- [12] Brinkmann V, Reichard U, Goosmann C, et al. Neutrophil extracellular traps kill bacteria[J]. *Science*, 2004, 303(5663): 1532–1535. DOI: 10.1126/science.1092385.
- [13] Yang H, Biermann MH, Brauner JM, et al. New insights into neutrophil extracellular traps: mechanisms of formation and role in inflammation[J]. *Front Immunol*, 2016, 7: 302. DOI: 10.3389/fimmu.2016.00302.
- [14] Lewis HD, Liddle J, Coote JE, et al. Inhibition of PAD4 activity is sufficient to disrupt mouse and human NET formation[J]. *Nat Chem Biol*, 2015, 11(3): 189–191. DOI: 10.1038/nchembio.1735.
- [15] Delgado-Rizo V, Martínez-Guzmán MA, Iniguez-Gutierrez L, et al. Neutrophil extracellular traps and its implications in inflammation: an overview[J]. *Front Immunol*, 2017, 8: 81. DOI: 10.3389/fimmu.2017.00081.
- [16] Hamam HJ, Palaniyar N. Post-translational modifications in NETosis and NETs-mediated diseases[J]. *Biomolecules*, 2019, 9(8): 369. DOI: 10.3390/biom9080369.
- [17] Pilszczek FH, Salina D, Poon KK, et al. A novel mechanism of rapid nuclear neutrophil extracellular trap formation in response to *Staphylococcus aureus*[J]. *J Immunol*, 2010, 185(12): 7413–7425. DOI: 10.4049/jimmunol.1000675.
- [18] Byrd AS, O'Brien XM, Johnson CM, et al. An extracellular matrix-based mechanism of rapid neutrophil extracellular trap formation in response to *Candida albicans*[J]. *J Immunol*, 2013, 190(8): 4136–4148. DOI: 10.4049/jimmunol.1202671.
- [19] Njeim R, Azar WS, Fares AH, et al. NETosis contributes to the pathogenesis of diabetes and its complications[J]. *J Mol Endocrinol*, 2020, 65(4): R65–R76. DOI: 10.1530/JME-20-0128.
- [20] Jorch SK, Kubers P. An emerging role for neutrophil extracellular traps in noninfectious disease[J]. *Nat Med*, 2017, 23(3): 279–287. DOI: 10.1038/nm.4294.
- [21] Yousefi S, Mihalache C, Kozłowski E, et al. Viable neutrophils release mitochondrial DNA to form neutrophil extracellular traps[J]. *Cell Death Differ*, 2009, 16(11): 1438–1444. DOI: 10.1038/cdd.2009.96.
- [22] Tibrewal S, Ivanir Y, Sarkar J, et al. Hyperosmolar stress induces neutrophil extracellular trap formation: implications for dry eye disease[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2014, 55(12): 7961–7969. DOI: 10.1167/iov.14-15332.
- [23] Sonawane S, Khanolkar V, Namavari A, et al. Ocular surface extracellular DNA and nuclease activity imbalance: a new paradigm for inflammation in dry eye disease[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2012, 53(13): 8253–8263. DOI: 10.1167/iov.12-10430.
- [24] Arafat SN, Robert MC, Abud T, et al. Elevated neutrophil elastase in tears of ocular graft-versus-host disease patients[J]. *Am J Ophthalmol*, 2017, 176: 46–52. DOI: 10.1016/j.ajo.2016.12.026.
- [25] An S, Raju I, Surenkhuu B, et al. Neutrophil extracellular traps (NETs) contribute to pathological changes of ocular graft-vs.-host disease (oGVHD) dry eye: implications for novel biomarkers and therapeutic strategies[J]. *Ocul Surf*, 2019, 17(3): 589–614. DOI: 10.1016/j.jtos.2019.03.010.
- [26] Tibrewal S, Sarkar J, Jassim SH, et al. Tear fluid extracellular DNA: diagnostic and therapeutic implications in dry eye disease[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2013, 54(13): 8051–8061. DOI: 10.1167/iov.13-12844.
- [27] Mun C, Gulati S, Tibrewal S, et al. A phase I/II placebo-controlled randomized pilot clinical trial of recombinant deoxyribonuclease (DNase) eye drops use in patients with dry eye disease[J]. *Transl Vis Sci Technol*, 2019, 8(3): 10. DOI: 10.1167/tvst.8.3.10.
- [28] Mahajan A, Hasíková L, Hampel U, et al. Aggregated neutrophil extracellular traps occlude meibomian glands during ocular surface inflammation[J]. *Ocul Surf*, 2021, 20: 1–12. DOI: 10.1016/j.jtos.2020.12.005.
- [29] Aqrabi LA, Galtung HK, Vestad B, et al. Identification of potential saliva and tear biomarkers in primary Sjögren's syndrome, utilising the extraction of extracellular vesicles and proteomics analysis[J]. *Arthritis Res Ther*, 2017, 19(1): 14. DOI: 10.1186/s13075-017-1228-x.
- [30] Reyes NJ, Yu C, Mathew R, et al. Neutrophils cause obstruction of eyelid sebaceous glands in inflammatory eye disease in mice[J]. *Sci Transl Med*, 2018, 10(451): eaas9164. DOI: 10.1126/scitranslmed.aas9164.
- [31] Thammavongsa V, Missiakas DM, Schneewind O. *Staphylococcus aureus* degrades neutrophil extracellular traps to promote immune cell death[J]. *Science*, 2013, 342(6160): 863–866. DOI: 10.1126/science.1242255.
- [32] Thanabalasuriar A, Scott B, Peiseler M, et al. Neutrophil extracellular traps confine *Pseudomonas aeruginosa* ocular biofilms and restrict brain invasion[J]. *Cell Host Microbe*, 2019, 25(4): 526–536. DOI: 10.1016/j.chom.2019.02.007.
- [33] Zhu B, Zhang L, Yuan K, et al. Neutrophil extracellular traps may have a dual role in *Pseudomonas aeruginosa* keratitis[J]. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2021, 40(1): 169–180. DOI: 10.1007/s10096-020-04023-2.
- [34] Mun Y, Hwang JS, Shin YJ. Role of neutrophils on the ocular surface[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(19): 10386. DOI: 10.3390/ijms221910386.
- [35] 杨彪, 张红敏, 王丽娅. 中性粒细胞在角膜真菌感染病程中的双相作用[J]. *中华实验眼科杂志*, 2015, 33(5): 470–473. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2015.05.017.
- Yang B, Zhang HM, Wang LY. Neutrophil as double-edged swords in fungal keratitis[J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2015, 33(5): 470–473. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2015.05.017.
- [36] 张红敏, 刘素素, 许中中, 等. 小鼠真菌性角膜炎中主要免疫细胞的作用[J]. *中华实验眼科杂志*, 2012, 30(9): 779–784. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2012.09.003.
- Zhang HM, Liu SS, Xu ZZ, et al. Effects of immunocyte on the process of fungal keratitis[J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2012, 30(9): 779–784. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2012.09.003.
- [37] Jin X, Zhao Y, Zhang F, et al. Neutrophil extracellular traps involvement in corneal fungal infection[J]. *Mol Vis*, 2016, 22: 944–952.



- [38] Fan F, Huang X, Yuan K, et al. Glucocorticoids may exacerbate fungal keratitis by increasing fungal aggressivity and inhibiting the formation of neutrophil extracellular traps [J]. *Curr Eye Res*, 2020, 45 (2) : 124-133. DOI: 10. 1080/02713683. 2019. 1657464.
- [39] Bruns S, Kniemeyer O, Hasenberg M, et al. Production of extracellular traps against *Aspergillus fumigatus* *in vitro* and in infected lung tissue is dependent on invading neutrophils and influenced by hydrophobin RodA [J/OL]. *PLoS Pathog*, 2010, 6 (4) : e1000873 [2025-01-10]. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC2861696/>. DOI: 10. 1371/journal.ppat. 1000873.
- [40] 张红敏, 刘素素, 陈国铭, 等. 中性粒细胞在不同品系正常小鼠角膜的分布及其与角膜创伤修复的关系 [J]. *中华实验眼科杂志*, 2014, 32 (9) : 780-785. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2014. 09. 003.
Zhang HM, Liu SS, Chen GM, et al. Distribution trait of neutrophils in corneas of different strains of normal mice and their effects on corneal wound healing [J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2014, 32 (9) : 780-785. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2014. 09. 003.
- [41] 董军璐, 金鑫, 刘华, 等. 中性粒细胞来源 MMP-8 对腐皮镰刀菌性角膜炎的组织损伤作用及其机制 [J]. *中华实验眼科杂志*, 2023, 41 (10) : 961-969. DOI: 10. 3760/cma. j. cn115989-20210714-00412.
Dong JL, Jin X, Liu H, et al. Investigation of the tissue-damaging effects and mechanisms of neutrophil-derived MMP-8 in *Fusarium* keratitis [J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2023, 41 (10) : 961-969. DOI: 10. 3760/cma. j. cn115989-20210714-00412.
- [42] Naffah de Souza C, Breda L, Khan MA, et al. Alkaline pH promotes NADPH oxidase-independent neutrophil extracellular trap formation; a matter of mitochondrial reactive oxygen species generation and citrullination and cleavage of histone [J]. *Front Immunol*, 2017, 8 : 1849. DOI: 10. 3389/fimmu. 2017. 01849.
- [43] Wan T, Zhang Y, Yuan K, et al. Acetylsalicylic acid promotes corneal epithelium migration by regulating neutrophil extracellular traps in alkali burn [J]. *Front Immunol*, 2020, 11 : 551057. DOI: 10. 3389/fimmu. 2020. 551057.
- [44] Wang L, Zhou X, Yin Y, et al. Hyperglycemia induces neutrophil extracellular traps formation through an NADPH oxidase-dependent pathway in diabetic retinopathy [J]. *Front Immunol*, 2018, 9 : 3076. DOI: 10. 3389/fimmu. 2018. 03076.
- [45] Barliya T, Dardik R, Nisgav Y, et al. Possible involvement of NETosis in inflammatory processes in the eye: evidence from a small cohort of patients [J]. *Mol Vis*, 2017, 23 : 922-932.
- [46] Park JH, Kim JE, Gu JY, et al. Evaluation of circulating markers of neutrophil extracellular trap (NET) formation as risk factors for diabetic retinopathy in a case-control association study [J]. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 2016, 124 (9) : 557-561. DOI: 10. 1055/s-0042-101792.
- [47] Wu S, Chen Y, Jin X, et al. Toll like receptors promote high glucose-induced vascular endothelial cell dysfunction by regulating neutrophil extracellular traps formation [J/OL]. *Inflammation*, 2025 [2025-09-04]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/40087251/>. DOI: 10. 1007/s10753-025-02283-8. [Published online ahead of print].
- [48] Li T, Qian Y, Li H, et al. Cellular communication network factor 1 promotes retinal leakage in diabetic retinopathy via inducing neutrophil stasis and neutrophil extracellular traps extrusion [J]. *Cell Commun Signal*, 2024, 22 (1) : 275. DOI: 10. 1186/s12964-024-01653-3.
- [49] Lou X, Chen H, Chen S, et al. LL37/FPR2 regulates neutrophil mPTP promoting the development of neutrophil extracellular traps in diabetic retinopathy [J/OL]. *FASEB J*, 2024, 38 (11) : e23697 [2025-09-04]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38842874/>. DOI: 10. 1096/fj. 202400656R.
- [50] Feng J, Xu J. Identification of pathogenic genes and transcription factors in glaucoma [J]. *Mol Med Rep*, 2019, 20 (1) : 216-224. DOI: 10. 3892/mmr. 2019. 10236.
- [51] Kaeslin MA, Killer HE, Fuhrer CA, et al. Changes to the aqueous humor proteome during glaucoma [J/OL]. *PLoS One*, 2016, 11 (10) : e0165314 [2025-01-10]. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5082887/>. DOI: 10. 1371/journal.pone. 0165314.
- [52] Ueno S, Yoneshige A, Koriyama Y, et al. Early gene expression profile in retinal ganglion cell layer after optic nerve crush in mice [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2018, 59 (1) : 370-380. DOI: 10. 1167/iovs. 17-22438.
- [53] Jha MK, Lee S, Park DH, et al. Diverse functional roles of lipocalin-2 in the central nervous system [J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2015, 49 : 135-156. DOI: 10. 1016/j. neubiorev. 2014. 12. 006.
- [54] Micera A, Quaranta L, Esposito G, et al. Differential protein expression profiles in glaucomatous trabecular meshwork: an evaluation study on a small primary open angle glaucoma population [J]. *Adv Ther*, 2016, 33 (2) : 252-267. DOI: 10. 1007/s12325-016-0285-x.
- [55] Ghosh S, Padmanabhan A, Vaidya T, et al. Neutrophils homing into the retina trigger pathology in early age-related macular degeneration [J]. *Commun Biol*, 2019, 2 : 348. DOI: 10. 1038/s42003-019-0588-y.
- [56] Ghosh S, Shang P, Yazdankhah M, et al. Activating the AKT2-nuclear factor- κ B-lipocalin-2 axis elicits an inflammatory response in age-related macular degeneration [J]. *J Pathol*, 2017, 241 (5) : 583-588. DOI: 10. 1002/path. 4870.
- [57] Ghosh S, Stepicheva N, Yazdankhah M, et al. The role of lipocalin-2 in age-related macular degeneration (AMD) [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2020, 77 (5) : 835-851. DOI: 10. 1007/s00018-019-03423-8.
- [58] Sofoluwe A, Bacchetta M, Badaoui M, et al. ATP amplifies NADPH-dependent and -independent neutrophil extracellular trap formation [J]. *Sci Rep*, 2019, 9 (1) : 16556. DOI: 10. 1038/s41598-019-53058-9.
- [59] Fletcher EL, Wang AY, Jobling AI, et al. Targeting P2X7 receptors as a means for treating retinal disease [J]. *Drug Discov Today*, 2019, 24 (8) : 1598-1605. DOI: 10. 1016/j. drudis. 2019. 03. 029.
- [60] Dong X, Song Y, Liu Y, et al. Natural killer cells promote neutrophil extracellular traps and restrain macular degeneration in mice [J]. *Sci Transl Med*, 2024, 16 (760) : eadi6626. DOI: 10. 1126/scitranslmed. adi6626.
- [61] Chen J, Zhao L, Ding X, et al. A β 1-40 oligomers trigger neutrophil extracellular trap formation through TLR4- and NADPH oxidase-dependent pathways in age-related macular degeneration [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 2022 : 6489923. DOI: 10. 1155/2022/6489923.
- [62] Fingerhut L, Ohnesorge B, von Borstel M, et al. Neutrophil extracellular traps in the pathogenesis of equine recurrent uveitis (ERU) [J]. *Cells*, 2019, 8 (12) : 1528. DOI: 10. 3390/cells8121528.
- [63] Fingerhut L, Yücel L, Strutzberg-Minder K, et al. *Ex vivo* and *in vitro* analysis identify a detrimental impact of neutrophil extracellular traps on eye structures in equine recurrent uveitis [J]. *Front Immunol*, 2022, 13 : 830871. DOI: 10. 3389/fimmu. 2022. 830871.
- [64] Pan S, Tan H, Chang R, et al. High ambient temperature aggravates experimental autoimmune uveitis symptoms [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9 : 629306. DOI: 10. 3389/fcell. 2021. 629306.
- [65] Li H, Tan H, Liu Z, et al. Succinic acid exacerbates experimental autoimmune uveitis by stimulating neutrophil extracellular traps formation via SUCNR1 receptor [J]. *Br J Ophthalmol*, 2023, 107 (11) : 1744-1749. DOI: 10. 1136/bjophthalmol-2021-320880.
- [66] Kawakami T, Yokoyama K, Ikeda T, et al. Presence of neutrophil extracellular traps in superficial venous thrombosis of Behçet's disease [J]. *J Dermatol*, 2022, 49 (7) : 741-745. DOI: 10. 1111/1346-8138. 16391.
- [67] Vural S, Kerl K, Ertop Doğan P, et al. Lesional activation of T_H 17 cells in Behçet disease and psoriasis supports HLA class I-mediated autoimmune responses [J]. *Br J Dermatol*, 2021, 185 (6) : 1209-1220. DOI: 10. 1111/bjd. 20643.

(收稿日期: 2025-02-10 修回日期: 2025-09-05)

(本文编辑: 刘艳 施晓萌)

